

バイタルサインの統合的評価をエンドポイントとした新規急性経口投与毒性試験方法の開発  
-統計学による半数致死量から診断学による概略の致死量への転換-(19KD1002)  
分担研究報告書

分担研究課題 急性毒性試験における遺伝子発現変動解析

研究分担者:	北嶋 聡	国立医薬品食品衛生研究所	毒性部 部長
研究協力者:	栗形麻樹子	国立医薬品食品衛生研究所	毒性部 室長
研究協力者:	齊藤洋克	国立医薬品食品衛生研究所	毒性部
研究協力者:	森田紘一	国立医薬品食品衛生研究所	毒性部
研究協力者:	辻昌貴	国立医薬品食品衛生研究所	毒性部
研究協力者:	森山紀子	国立医薬品食品衛生研究所	毒性部

## 研究要旨

本分担研究では、急性毒性発現時の海馬、肺、肝の遺伝子発現データを取得し、その臓器連関解析を実施した。具体的には、被験物質を単回経口投与後、得られたマウスの海馬を含む脳 4 部位、肺及び肝の mRNA サンプルにつき、当方が開発した Percellome 手法(遺伝子発現値の絶対化手法)を適用した網羅的遺伝子発現解析を行った。再現性、感度、用量相関性、全遺伝子発現の網羅性を考慮し Affymetrix 社 GeneChip、Mouse Genome 430 2.0 を使用した。4 用量、4 時点の遺伝子発現情報を既に開発済みの波面解析等を用いた教師無しクラスタリング解析を行い、多臓器連関及びインフォマティクス解析の開発を進める計画である。

H31/R 元年度は、被験物質としてモデル物質として、フグ毒として知られるテトロドトキシン(tetrodotoxin, TTX)を選択し、雄性マウスに単回経口投与した際の網羅的な遺伝子発現変動解析について検討した。金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与し、投与後の時間 4 点(投与 2, 4, 8 及び 24 時間後)、投与用量各 300, 100, 30, 0 µg/kg(溶媒:0.1%酢酸を含む 0.5%MC, pH3.5)の 4 点からなる計 16 群、各群 3 匹、合計 48 匹のマウスについて解析を行った。なお用量設定に際しては、TTX のマウス経口 LD50 値が 334 µg/kg (RTECS 情報)であったことから、最高用量を 700 µg/kg とし 3 段階の用量(700, 500, 300 µg/kg、及び溶媒対照)を設定し、予備試験を実施した。12 週齢の雄性 C57BL/6J マウスを用い、各群 3 匹に単回経口投与した。その結果、700 µg/kg 群では全例、500 µg/kg 群では 2 例に死亡が認められたが、300 µg/kg 投与群では死亡例はみられなかった。この結果から、24 時間無作用量であった 300µg/kg を最高用量をとし、公比 $\sqrt{10}$  で除して 300, 100, 30µg/kg の投与用量を設定した。

脳の内、背景データが多く揃っている海馬における網羅的遺伝子発現変動解析をおこなった結果、ストレス関連遺伝子(Sgk1 遺伝子など)の発現増加が目立ち、他方、Na<sup>+</sup>チャンネルなど TTX が直接関与することが示唆されるシグナルネットワーク関連遺伝子の発現変動は認められなかった。この事は、海馬に対して TTX が直接作用するわけではなく、ストレス応答に絡むサイトカインや糖質コルチコイドなどのような二次的シグナルが海馬に働き、その結果、TTX の急性参照用量設定のための報告にあるように、apathy(無関心)といった中枢影

響が誘発されている事が示唆された。そこで今後、二次的シグナル候補物質を探索するために、海馬とは別に、肝における解析を検討し、多臓器連関解析を実施する予定である。

**R2** 年度も引き続き、急性毒性誘発モデル物質を単回経口投与した際の、海馬における網羅的遺伝子発現変動解析を実施する。

## A. 研究目的

本研究の目的は、ReductionとRefinementによりヒトの安全性確保に主眼を置いた新規急性経口投与毒性試験方法の開発である。現在、急性毒性において使用されているエンドポイントを「死亡」からより精緻な「複数のバイタルサイン」に置き換え、化学物質の毒性強度の指標を「統計学」を背景とした「半数致死量(LD50)」から「診断学」を基盤にした「概略の致死量」へ転換を図る。一般状態、心電、心拍、血圧、体温、呼吸、脳波などの「バイタルサイン」を指標とした更なる動物数の削減とヒトの安全性確保の向上を可能とする「新規急性経口投与毒性試験方法」が、近年のITデバイスの小型化と新素材センサーの出現により開発可能となった。具体的には1匹の実験動物から多項目に亘るバイタルサイン(VS)を取得することにより毒性徴候を精緻に解析・定量化し、計算科学によって化学物質の急性毒性の強度と毒性標的の合理的判定基準を作成し、ヒトが急性曝露された際の危険度をより正確に予測する事を可能とする。これにより、毒物及び劇物取締法の指定に関して、中毒事象を含むより現実に想定される事故等に即した規制が可能となる。言い換えると、ヒトの急性中毒患者が救急外来で受ける諸検査に該当する所見を1匹の実験動物から取得する試験法の開発である。本研究は二つの大きな柱からなる。第一の柱は、「今までの情報や経験から選択したVSの諸項目の、急性毒性指標としての妥当性、再現性、信頼性、を確認する研究」である。これには、①急性毒性発現における遺伝子発現変動解析、②急性毒性試験における行動解析の二つを分担研究課題として設定した。第二の柱は、「選択したVSの諸項目を正確に、実験動物から測定するためのデバイスの改良」である。これには、③新素材を用いたバイタルサインセンサーの開発、④バイタルサインの統合的解析方法(ソフトウェア)の開発を分担研究課題として設定した。

本分担研究では、第一の柱の①急性毒性発現における遺伝子発現変動解析を扱う。

## B. 研究方法

計画通りに、H31/R元年度(初年度)は、モデル物質として、フグ毒として知られるテトロドトキシン(tetrodotoxin, TTX)を選択し、雄性マウスに単回経

口投与した際の網羅的な遺伝子発現変動解析について検討した。以下に実験方法の概要を示す。遺伝子発現変動解析は、独自の遺伝子発現値の絶対化手法であるPercellome法(Kanno J et al, BMC Genomics 7 64 2006)を用いた。

### B-1 トキシコゲノミクス

雄性マウス(成熟期[12週齢])を対象とし、被験物質を、金属製胃ゾンデ(KN-348、夏目製作所)を用いて強制経口投与し、投与後の時間4点(投与2, 4, 8及び24時間後)、投与用量各300, 100, 30, 0  $\mu$ g/kg(溶媒:0.1%酢酸を含む0.5%MC, pH3.5)の4点からなる計16群、各群3匹、合計48匹のマウス各臓器について解析を行った。採取臓器は、海馬を含む脳4部位(海馬、皮質、脳幹、小脳)、肺及び肝とする。マウス各組織を採取後すみやかにRNA later(Ambion社)の入ったRNA用サンプルチューブ(キアゲン社)に採取し、4°Cで一晩浸漬し、RNaseを不活化した。

得られたマウスの海馬を含む脳4部位、肺及び肝のmRNAサンプルにつき、当方が開発したPercellome手法(遺伝子発現値の絶対化手法)を適用した網羅的遺伝子発現解析を行った。再現性、感度、用量相関性、全遺伝子発現の網羅性を考慮しAffymetrix社GeneChip、Mouse Genome 430 2.0を使用する。4用量、4時点の遺伝子発現情報を既に開発済みの波面解析等を用いた教師無しクラスタリング解析を行い、多臓器連関及びインフォマテイクス解析の開発を進める。

### B-2 被検物質

H31/R元年度(初年度)は、モデル物質として、フグ毒として知られるテトロドトキシン(tetrodotoxin, TTX)(生化学用);分子量319.27、CAS No. 4368-28-9、富士フイルム和光純薬(株))を使用した。TTXの化学構造式を図1に示す(別添)。

カタログ番号:206-11071

ロット番号:LKG5746

純度:95.7%[HPLC]

### B-3 用量設定実験

TTX のマウス経口 LD<sub>50</sub> 値が 334 µg/kg (RTECS 情報)であったことから、最高用量を 700 µg/kg とし 3 段階の用量(700, 500, 300 µg/kg、及び溶媒対照)を設定し、予備試験を実施した。12 週齢の雄性 C57BL/6J マウスを用い、各群 3 匹に単回経口投与した。その結果、700 µg/kg 群では全例、500 µg/kg 群では 2 例に死亡が認められたが、300 µg/kg 投与群では死亡例はみられなかった。この結果から、24 時間無作用量であった 300 µg/kg を最高用量をとし、公比√10 で除して 300, 100, 30µg/kg の投与用量を設定した

### B-4 統計処理

溶媒群と投与群の間の有意差の検定を Student の t 検定によりおこない P 値が 0.05 未満の場合を有意と判定した。実験データは、平均値±標準偏差(SD)にて示した。

### B-5 各遺伝子の発現変動の表示方法

実験結果における各遺伝子の発現変動を、下記図 2(別添)のように、各遺伝子につき濃度依存性、経時変化、遺伝子発現量についての 3 次元グラフとして示す。具体的には、縦軸(Z 軸)に絶対値化した(細胞 1 個あたりのコピー数)mRNA の発現量をと、X, Y 軸にはそれぞれ、投与用量とサンプリング時間をと、各条件の n=3 の平均値曲面で表示する。加えてこの平均曲面の上下に標準偏差(SD)平面(薄い色)を示す。

(倫理面への配慮)

動物実験の計画及び実施に際しては、科学的及び動物愛護的配慮を十分行い、下記、所属の研究機関が定める動物実験に関する規定、指針を遵守した。「国立医薬品食品衛生研究所・動物実験等の適正な実施に関する規程(平成 27 年 4 月版)」。

## C. 研究結果及び考察

### C-1 TTX をマウスに単回強制経口投与した際の海馬における網羅的遺伝子発現変動解析:

解析ソフト RSort を利用し、遺伝子の発現変動が有意(t 検定での各時点毎に溶媒対照との間で P 値

<0.05)で、発現変動の最高値のコピー数が 2 以上という条件で遺伝子を粗抽出した。その結果、発現が増加する遺伝子 286 プローブセット(ps) が粗抽出され、このうち目視による確認により生物学的な変化が示唆されたものとして 121 ps が抽出された。また発現が減少する遺伝子としては 508 ps が粗抽出され、目視による確認により生物学的な変化が示唆されたものは抽出されなかった。

増加分 121 ps について検討した結果、神経系の有害事象との関連を示唆するシグナルネットワークとして、ストレス応答遺伝子が見出せた。この内、顕著な発現変動が認められた、Nfkbia (nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B cells inhibitor, alpha) 、 Sgk1 (serum/glucocorticoid regulated kinase 1) 、 Mt1(metallothionein 1) 及び、 Mt2 (metallothionein 2) の 4 種の遺伝子の発現変動を図 3(別添)に示す。

次いで、発現増加が認められる遺伝子の発現調節因子の探索の為に、プロモーター解析(in silico)を、IPAにおける Upstream Analysis を用いて検討した結果、ストレス応答に絡むデキサメタゾンあるいは TNF が調節因子として抽出されてきた。抽出された上位 10 位のを図 4(別添)として示す(<E-7)。したがって、海馬における細胞に対してストレス応答が誘発されていることが明らかとなった。神経機能への影響などについてさらに詳細な解析を進めている。

他方、興味深いことに Na<sup>+</sup>チャネルなど TTX が直接関与することが示唆されるシグナルネットワーク関連遺伝子の発現変動は認められないことが明らかとなった。この事は、TTX が血液脳関門を通過できないことを示しているものと考えられる。

近年、二枚貝から TTX が検出され、EU において貝類の TTX のリスク評価が行われ、TTX のリスクは国際的に注目されるようになってきている。欧州食品安全機関(EFSA)が取りまとめた報告書では、既往知見であるヒトに対する最低致死用量が 2 mg であることに疑問が示された。その一方で、マウス腹腔内投与毒性における半数致死量(LD<sub>50</sub>)を 9~12.5 µg/kg、経口投与における LD<sub>50</sub>を 232~532 µg/kg と推定し、また「単回経口投与の際の無気力状態(apathy)という一般状態変化を指標」とした急性参照用量(ARfD)を 0.25 µg/kgBW と導出し、貝類を 400 グラ

ム喫食した場合のヒトに対し有害な影響をもたらさない貝肉中の含有量を 44 µgTTX 等量/kg 貝肉と推定している。ARfD とは、ヒトがある物質を 24 時間以内に経口摂取した場合に、健康に悪影響を示さないと推定される一日当たりの摂取量である。

したがって、げっ歯類において単回経口投与した TTX が無気力状態(apathy) を誘発することから、中枢にはたらくことが明らかとなってきたが、TTX が血液脳関門を通過できないことから、この分子機序は不明である。

我々の海馬における網羅的遺伝子発現変動解析の結果からは、海馬に対して TTX が直接作用するわけではなく、ストレス応答に絡むサイトカインや糖質コルチコイドなどのような二次的シグナルが海馬に働き、その結果、TTX の急性参照用量設定のための報告にあるように、apathy (無関心) といった中枢影響が誘発されている事が示唆された。そこで今後、二次的シグナル候補物質を探索するために、海馬とは別に、肝における解析を検討し、多臓器連関解析を実施する予定である。

加えて今後、当毒性部が有する遺伝子発現データベース(100 種類以上の化学物質の単回投与データが含まれている)との参照解析を行い、より詳細な遺伝子発現変動解析をおこない、解析精度を上げる予定である

## D. 結論

H31/R 元年度は、被験物質としてモデル物質として、フグ毒としてしられる TTX を選択し、雄性マウスに単回経口投与した際の網羅的な遺伝子発現変動解析について検討した。脳の内、背景データが多く揃っている海馬における網羅的遺伝子発現変動解析をおこなった結果、ストレス関連遺伝子 (Sgk1 遺伝子など) の発現増加が目立ち、他方、Na<sup>+</sup>チャネルなど TTX が直接関与することが示唆されるシグナルネットワーク関連遺伝子の発現変動は認められなかった。この事は、海馬に対して TTX が直接作用するわけではなく、ストレス応答に絡むサイトカインや糖質コルチコイドなどのような二次的シグナルが海馬に働き、その結果、TTX の急性参照用量設定のための報告にあるように、apathy (無関心) といった中枢影響が誘発されている事が示唆された。そこで今後、二

次的シグナル候補物質を探索するために、海馬とは別に、肝における解析を検討し、多臓器連関解析を実施する予定である。

なお別添に表 1 として、遺伝子の発現変動が有意 (t 検定での P 値<0.05) で、発現変動の最高値の発現コピー数が 20 以上という条件下で自動抽出した全遺伝子のリストを示す。抽出された遺伝子数は 41 ps であった。

R2 年度も引き続き、急性毒性誘発モデル物質を単回経口投与した際の、海馬における網羅的遺伝子発現変動解析を実施する。

## E. 健康危機情報

なし

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Kobayashi K, Kuze J, Abe S, Takehara S, Minegishi G, Igarashi K, Kitajima S, Kanno J, Yamamoto T, Oshimura M, Kazuki Y.: CYP3A4 Induction in the Liver and Intestine of Pregnane X Receptor/CYP3A-Humanized Mice: Approaches by Mass Spectrometry Imaging and Portal Blood Analysis. *Mol Pharmacol*, 96(5): 600-608, 2019.

Ono R, Yasuhiko Y, Aisaki K, Kitajima S, Kanno J, Yoko H.: Exosome-mediated horizontal gene transfer occurs in double-strand break repair during genome editing. *Commun Biol* 2, Article number: 57, 2019.

北嶋 聡、エディトリアル:ドーピングの中毒学・毒性学—序文—、中毒研究(Jpn. J. Clin. Toxicol.) 32: 373-374.2019.

### 2. 学会発表

Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Jun Kanno, Percellome Project on Sick-Building-Syndrome level inhalation for the prediction of neurobehavioral toxicity. OpenTox Asia Conference 2018 (2018.5.24.) Tokyo, Japan

北嶋 聡、シックハウス(室内空気汚染)対策に関する

る研究-シックハウス症候群レベルの室内揮発性有機化合物の吸入暴露の際の海馬 Percellome トキシコゲノミクスによる中枢影響予測-、環境科学会 2019 年会(2019.9.13.)名古屋

北嶋 聡、近藤一成、ゲノム編集技術応用食品の現状と課題、日本食品化学学会 第35回食品化学シンポジウム(2019.11.8.)東京

登田 美桜、北嶋 聡、フグ毒として知られるテトロドトキシンのリスク評価に関する国際的動向ーマウスユニットと急性参照用量ー、第46回日本毒性学会学術年会(2019.6.26.)徳島

種村 健太郎、北嶋 聡、菅野 純、発生期マウスへの神経シグナル異常による成熟後の神経行動毒性発現～海産毒による異常誘発モデルとしての検討～、第46回日本毒性学会学術年会(2019.6.26.)徳島

小野 竜一、相崎 健一、北嶋聡、菅野 純、Percellome プロジェクトから見えてきたエピジェネティクス影響、第46回日本毒性学会学術年会(2019.6.26.)徳島

菅野 純、北嶋 聡、相崎 健一、小野 竜一、Percellome トキシコゲノミクスのエピジェネティクス基盤 —「新型」反復曝露試験の解析—、第46回日本毒性学会学術年会(2019.6.28.)徳島

夏目 やよい、相崎 健一、北嶋 聡、Samik GOSH、北野 宏明、水口 賢司、菅野 純、Garuda プラットフォームによる多角的毒性予測、第46回日本毒性学会学術年会(2019.6.28.)徳島

種村 健太郎、北嶋 聡、菅野 純、低用量化学物質の周産期ばく露による情動認知行動毒性～子ども

の毒性学に向けた評価系開発の現在～、第46回日本毒性学会学術年会(2019.6.28.)徳島

Yayoi Natsume-Kitatani, Ken-ichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Samik Ghosh, Hiroaki Kitano, Kenji Mizuguchi, Jun Kanno, Cross Talks among PPARα, SREBP, and ER Signaling Pathways in the Side Effect of Valproic Acid, IUTOX 15th International Congress of Toxicology (ICT 2019) (2019.7.16.)ハワイ

Ryuichi Ono, Yusuke Yoshioka, Yusuke Furukawa, Takahiro Ochiya, Satoshi Kitajima, Yoko Hirabayashi, Evaluation of Exosomes as Toxic Biomarkers, IUTOX 15th International Congress of Toxicology (ICT 2019)] (2019.7.17.)ハワイ

Jun Kanno, Ken-ichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Kentaro Tanemura, The Concept of “Signal Toxicity” for the Mechanistic Analysis of So-Called Low Dose Effect and Delayed Effect after Perinatal Exposure.、IUTOX 15th International Congress of Toxicology (ICT 2019)] (2019.7.17.)ハワイ

## G. 知的財産所有権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

別添

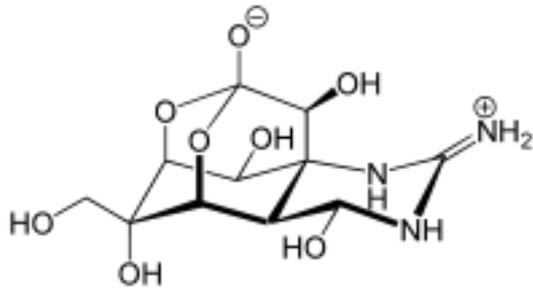


図 1 TTX の化学構造式

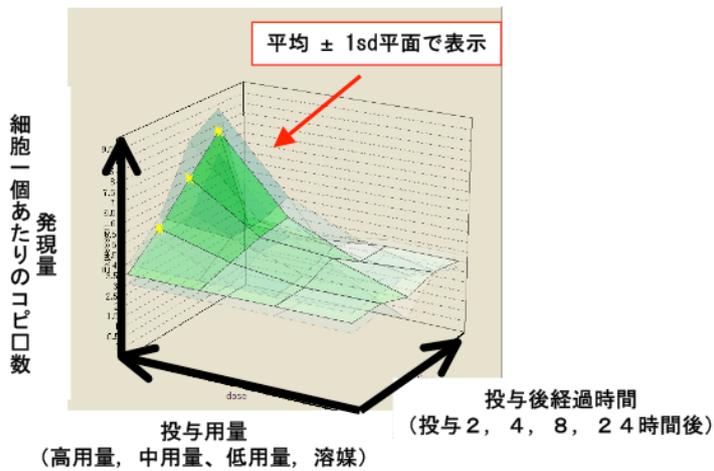


図 2 遺伝子発現変動を示す図

各遺伝子につき、濃度依存性、経時変化、遺伝子発現量についての 3 次元の曲面グラフとして示し、各条件の 3 サンプルの平均値を示す曲面と、その上下に標準偏差(SD)平面(薄い色)をあわせて示した。一つの化学物質につき、約 45,000 枚の平面が描かれる。

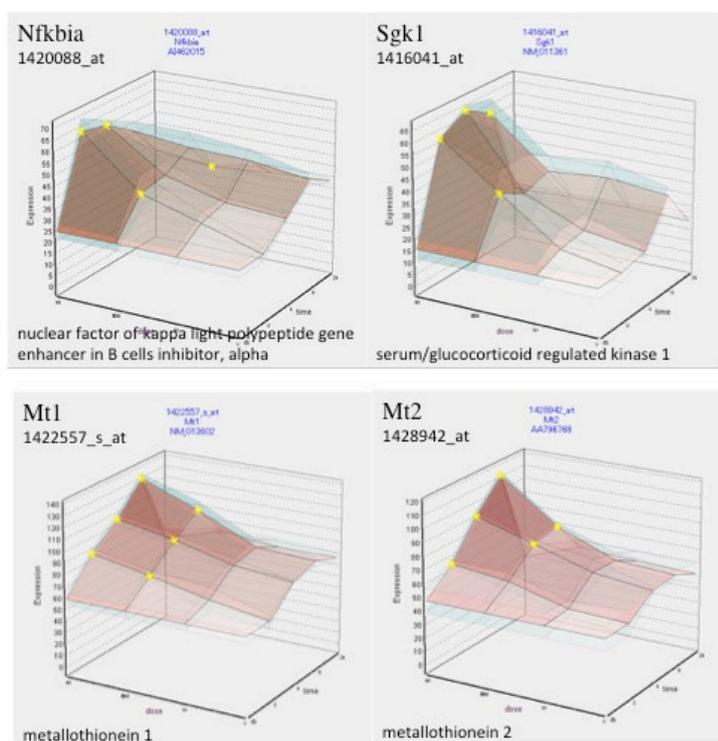


図3 TTX 単回経口投与時のマウス海馬におけるストレス応答関連遺伝子 Nfkb1a、Sgk1、Mt1 及び Mt2 遺伝子の発現変動

TTX 単回投与時にマウス海馬で発現増加が認められたストレス応答関連遺伝子の一部について発現変動の状態を示す。(※は、同時点の溶媒対象群に対して、 $p < 0.05$  で有意な変動であることを示す。)

Upstream Regulator	Molecule Type	p-value of overlap	Target Molecules in Dataset
1 forskolin	chemical toxicant	1.07E-11	CDKN1A,CYP1B1,DIO2,ERRF1,EZR,FKB
2 dexamethasone	chemical drug	1.45E-10	ACSL3,ANGPTL4,CAPN1,CDKN1A,CYP1
3 dexamethasone phosphate	chemical drug	5.59E-10	ERRF1,GADD45G,Mt1,NFKBIA,PKK4,SG
4 progesterone	chemical - endogenous mammalian	6.57E-10	CDKN1A,CYP1B1,ERRF1,EZR,FKBP5,FL
5 R5020	chemical reagent	1.5E-09	CDKN1A,FKBP5,NFKBIA,PKK4,RASD1,S
6 beta-estradiol	chemical - endogenous mammalian	2.06E-09	ARID5B,C8orf44-SGK3/SGK3,CDKN1A,(
7 fluticasone propionate	chemical drug	4.45E-08	ANGPTL4,C8orf44-SGK3/SGK3,FKBP5,
8 4-hydroxytamoxifen	chemical drug	6.57E-08	CDKN1A,CYP1B1,ERRF1,NFKBIA,PKK4,
9 TNF	cytokine	0.00000097	ANGPTL4,ARID5B,ARRDC3,CDKN1A,CY
10 isobutylmethylxanthine	chemical toxicant	0.000000215	ACSL3,ANGPTL4,CDKN1A,Mt1,Mt2,PKK

図4 プロモーター解析(in silico) を、IPA における Upstream Analysis を用いて検討した結果

ストレス応答に絡むデキサメタゾンあるいは TNF が調節因子として抽出されてきた。抽出された上位 10 位のもの示す。

表1

解析ソフト RSort を利用し、TTX 単回経口投与時のマウス海馬において遺伝子の発現変動が有意(t 検定での P 値<0.05)で、発現変動の最高値の発現コピー数が 20 以上という条件下で自動抽出した発現変動遺伝子のリスト [抽出された遺伝子数 41 ps] (抽出条件: Expand-H\_G2\_AP\_lmt\_Std-Av.RSSETA)

	AffyID	Gene Name	Yp1	Max	P1t-test
1	1420088_at	Nfkbia	02hr	63.64134	0.00057
2	1454617_at	Arrdc3	02hr	23.70482	0.000232
3	1449731_s_at	Nfkbia	02hr	23.7132	0.000711
4	1450779_at	Fabp7	02hr	31.83616	0.201092
5	1427036_a_at	Eif4g1	02hr	39.11248	0.010513
6	1426599_a_at	Slc2a1	04hr	22.51376	0.002754
7	1442025_a_at	---	04hr	24.98179	0.000183
8	1438157_s_at	Nfkbia	04hr	28.06098	9.81E-05
9	1416041_at	Sgk1	04hr	63.34757	1.69E-05
10	1424737_at	Thrsp	04hr	22.7152	0.002361
11	1419874_x_at	Zbtb16	04hr	20.14237	0.000103
12	1416101_a_at	Hist1h1c	04hr	36.78277	0.004478
13	1436994_a_at	Hist1h1c	04hr	23.0869	0.016792
14	1438976_x_at	Mat2a	04hr	42.69502	0.003144
15	1434773_a_at	Slc2a1	04hr	31.50373	0.006503
16	1435176_a_at	Id2	04hr	34.38144	0.035528
17	1438931_s_at	Sesn1	04hr	26.52597	0.013693
18	1450850_at	Ezr	08hr	22.95881	0.002087
19	1418937_at	Dio2	08hr	20.89047	0.017995
20	1416125_at	Fkbp5	08hr	26.96397	0.005959
21	1449335_at	Timp3	08hr	20.34981	0.001187
22	1427131_s_at	Lrrc58	08hr	39.43084	0.015814
23	1438251_x_at	Htra1	08hr	38.94385	9.89E-05
24	1422557_s_at	Mt1	08hr	130.7258	0.000154
25	1420772_a_at	Tsc22d3	08hr	40.7582	0.000237
26	1416332_at	Cirbp	08hr	27.44549	0.013735
27	1436263_at	Mobp	08hr	31.62599	0.04032
28	1428942_at	Mt2	08hr	112.2274	5.80E-05
29	1425281_a_at	Tsc22d3	08hr	26.69916	0.007722
30	1452757_s_at	Hba-a1 /// Hba-a2	08hr	80.1652	0.008202
31	1427226_at	Epn2	24hr	28.04525	0.205074
32	1452514_a_at	Kit	24hr	22.0232	0.669502
33	1420886_a_at	Xbp1	24hr	43.6829	0.215621
34	1427464_s_at	Hspa5	24hr	32.2643	0.512541
35	1416064_a_at	Hspa5	24hr	58.28615	0.822113
36	1437223_s_at	Xbp1	24hr	47.03686	0.433561
37	1417065_at	Egr1	24hr	54.92657	0.532709
38	1415834_at	Dusp6	24hr	22.21541	0.67941
39	1435638_at	Gsk3a	24hr	48.75392	0.603823
40	1423795_at	Sfpq	24hr	33.51739	0.758489
41	1438941_x_at	Ampd2	24hr	35.31098	0.047394